第 40 卷 第 3 期　　昆 虫 学 报　　Vol. 40, No. 3
1997 年 8 月　　ACTA ENTOMOLOGICA SINICA　　Aug., 1997

滞育和非滞育棉铃虫血淋巴类固醇蜕皮素含量变化的比较

王方海　　龚　和
（中国科学院动物研究所　北京　100080）

摘要　采用放射免疫分析法对不同时期的注定滞育和非滞育棉铃虫的血淋巴中的类固醇蜕皮素的含量进行了测定，发现在预蛹期间，注定滞育的棉铃虫的类固醇蜕皮素含量高于非滞育的棉铃虫，化蛹后，注定滞育的棉铃虫的类固醇蜕皮素含量则迅速降到极低的水平，明显低于非滞育棉铃虫。用20-羟基蜕皮素处理不同时期的滞育蛹，均能打破滞育。由此可见，类固醇蜕皮素含量的降低或缺乏乃是导致棉铃虫滞育的关键因子之一。

关键词　棉铃虫，类固醇蜕皮素，滞育

在长期进化过程中，昆虫巧妙地适应多变的环境以维持个体和种群的生存，滞育就是昆虫重要的适应手段之一。

我国重大害虫棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 为蛹滞育型，目前从生态角度研究其滞育的诱导和解除因素，已有不少报道[1~3]。但从生理角度研究激素对其滞育的调控作用却未见任何报道。从棉铃虫的近缘种美洲棉铃虫 *Heliothis zea*[4]、烟青虫 *Heliothis virescens*[5]和大棉铃虫 *Heliothis punctigera*[6]的研究报道来看，认为蛹滞育主要由脑和前胸腺为主轴的内分泌器官控制，其中蜕皮素对滞育的调控起着关键的作用。为了弄清蜕皮素在棉铃虫滞育中的调控作用，进而从生理角度上来阐明生态因子(光照、温度）如何通过影响内分泌系统来对棉铃虫的滞育起调控作用，以期能为深入研究害虫种群发生和成灾规律提供重要的理论基础，本文对人工饲养所获得的注定滞育和非滞育棉铃虫中的类固醇蜕皮素的含量变化及其在打破滞育方面的作用进行了研究。

1　材料和方法

1.1　实验昆虫

虫源由中国科学院动物研究所昆虫生态室何忠先生提供（采自河南郑州)，用人工饲料[7]在养虫室里进行饲养，其中滞育的棉铃虫在20 ℃、10 h 光照下饲养[1]，滞育率可达100%，非滞育的棉铃虫在20 ℃、16 h 光照下饲养。

1995-05-22收稿，1996-02-22收修改稿

1.2　血淋巴的取样

用解剖针刺破虫体胸足或蛹的胸部的表皮，轻轻挤压出血淋巴，用定量毛细管收集20 μL的血淋巴/头，每组共取10头，混匀并加点苯基硫脲存于－20 ℃的冰箱中备用。按6个不同发育期取样：①5龄第3 d；②6龄第3 d；③预蛹第3 d；④前期蛹（化蛹后1～2 d）；⑤中期蛹（化蛹后14～18 d）；⑥后期蛹（化蛹后58～61 d）。因非滞育蛹在20 ℃、16 h光照下，蛹期只有30 d左右，故非滞育蛹比滞育蛹少取一个后期蛹的样品。

1.3　类固醇蜕皮素的提取和放射免疫分析

每组各取20 μL的血淋巴分别加入事先已有1 mL 60%甲醇水溶液的玻管中。摇匀后4 000 r/min离心10 min，吸取上清液，沉淀物再用1 mL 60%甲醇水溶液抽提一次。合并两次抽提液，70 ℃水浴蒸干。加1 mL磷酸盐缓冲生理盐水再溶解蒸干物。放射免疫分析法测定依照曹梅讯[8]和朱湘雄[9]的方法。所用试剂盒由中国科学院上海昆虫所曹梅讯教授提供。样品中类固醇蜕皮素的含量以20-羟基蜕皮素的当量表示。该方法对类固醇蜕皮素和20-羟基蜕皮素的灵敏度十分接近。

1.4　滞育蛹的20-羟基蜕皮素的处理

用10%的乙醇溶解20-羟基蜕皮素，使其浓度为2 μg/μL，用毛细管拉成的玻璃微针在蛹的腹节间膜处进行注射，每头蛹注射1 μL。对照1注射等体积的10%的乙醇溶液，对照2不进行任何处理。处理完毕后置于20 ℃，10 h光照条件下，10 d后进行检查，若蛹的头部后方排列成一斜行的4个黑点消失，则表明此蛹已经发育[10]。

2　结果与分析

2.1　不同发育期的滞育和非滞育棉铃虫血淋巴中的类固醇蜕皮素含量

为了弄清滞育和非滞育棉铃虫的类固醇蜕皮素含量是否存在着差异，我们分别测定了幼虫期和蛹期血淋巴中类固醇蜕皮素的含量，结果如图1。

在5龄和6龄幼虫，无论注定滞育还是非滞育，它们的血淋巴中类固醇蜕皮素的含量均较低，每微升血淋巴约含100 pg左右，无明显差别。

在预蛹期，滞育和非滞育棉铃虫血淋巴中的类固醇蜕皮素的含量均很高，但滞育型预蛹的含量为每微升血淋巴1 183 pg，明显高于非滞育的预蛹的含量每微升血淋巴607 pg。

化蛹后，非滞育蛹血淋巴中类固醇蜕皮素含量仍维持在较高的水平，每微升血淋巴600 pg，但滞育蛹血淋巴中类固醇蜕皮素的含量则急剧下降到极低水平，仅每微升血淋巴20 pg，两者出现了明显的差别。

以上结果表明，滞育和非滞育棉铃虫血淋巴中类固醇蜕皮素的含量在预蛹期即开始出现差别，化蛹后则呈现明显差别。因类固醇蜕皮素在变态过程中具有重要的作用，当其含量高时，可以加速变态；而当其含量很低时，可延缓或阻止变态[11]，棉铃虫非滞育蛹因类固醇蜕皮素含量维持在较高水平，故蛹态时间较短，很快就变态羽化为成虫；棉铃

虫滞育蛹的类固醇蜕皮素含量维持在较低水平，故蛹态时间较长，呈现滞育特性。

2.2 棉铃虫雌雄滞育蛹的类固醇蜕皮素含量

我们分别测定了棉铃虫雌雄滞育蛹的类固醇蜕皮素含量，看其是否存在量上的差别，结果如图2。无论在中期还是在后期，雌雄蛹间血淋巴类固醇蜕皮素含量均无明显差异，维持在每微升血淋巴15 pg 左右。

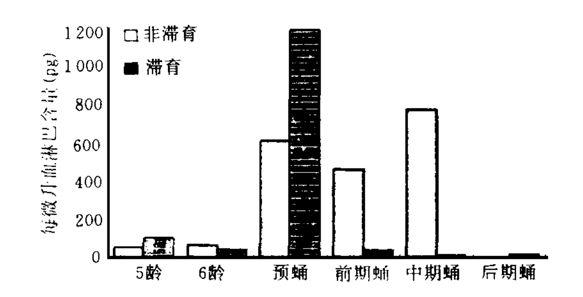


图1　棉铃虫不同发育期血淋巴中类固醇蜕皮素的含量
（注：后期蛹时，非滞育蛹已羽化为成虫）

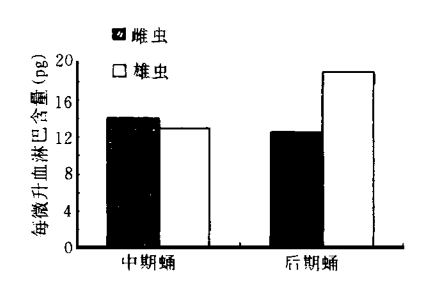


图2　棉铃虫雌雄滞育蛹的类固醇蜕皮素含量

2.3 20-羟基蜕皮素对棉铃虫蛹滞育的打破

由棉铃虫蛹血淋巴中类固醇蜕皮素含量测定得知，滞育蛹的含量明显低于非滞育蛹，为了证明棉铃虫蛹的滞育是否由类固醇蜕皮素缺乏所导致，我们将20-羟基蜕皮素注射进滞育的棉铃虫蛹中，看其能否打破滞育，结果如表1。

经激素处理的滞育蛹均被解除滞育进入发育，而乙醇处理和未处理的滞育蛹仍完全处于滞育状态，这说明提高棉铃虫滞育蛹的类固醇蜕皮素含量可打破其滞育。

表1　经20-羟基蜕皮素处理后棉铃虫滞育蛹的发育情况

处理	化蛹后天数 (d)	虫量 (头)	发育蛹	
			数目	百分率(%)
前期蛹	1～2	8	8	100
中期蛹	18	10	10	100
后期蛹	70～80	10	10	100
对照1	15	11	0	0
对照2	15～18	20	0	0

3 讨论

在诱导滞育条件下的棉铃虫预蛹的类固醇蜕皮素含量高于正常发育的预蛹，从而在滞育和非滞育的虫体中开始出现差别，此结果与Loeb[5]所报道的烟青虫预蛹的类固醇蜕皮素的含量在诱导滞育条件下降到对照组的1/5结果不同，说明不同的物种间其类固醇蜕皮素含量的变化是不一样的，在滞育中的作用和地位也可能不尽相同。

光照和温度是生态学家公认的诱导棉铃虫滞育的关键生态因子，但棉铃虫究竟在那

一个具体虫期感受这些外界环境信号则有不同的看法。从我们的实验结果来看，滞育和非滞育棉铃虫在预蛹期间内类固醇蜕皮素含量开始出现差别，推测棉铃虫的敏感虫期应该发生在6龄或6龄前，从而在生理角度上支持了实验生态学所得到的结论：棉铃虫5龄～6龄幼虫是产生滞育的主要敏感虫期，6龄幼虫是最敏感虫期[12]。

光照和温度是影响和决定棉铃虫是否进入滞育状态的关键因素，通过我们的实验，我们发现在诱导滞育条件下，光照和温度最终的结果是通过一系列的途径降低棉铃虫蛹中的类固醇蜕皮素含量，从而导致滞育的特性，但光照和温度在虫体内究竟是通过何种途径影响类固醇蜕皮素的含量的，目前还不很清楚，有待进一步研究。

参 考 文 献

1 李 超，谢宝瑜. 光周期和温度的联合作用对棉铃虫种群滞育的影响. 昆虫知识，1981，**18**：58～61

2 卓乐姒等. 人工饲养棉铃虫环境条件的研究. 昆虫知识，1981，**18**：61～65

3 罗 马等. 光周期诱导棉铃虫滞育的生化基础. 生态学报，1983，**3**：131～140

4 Meola R W，Adkisson P L. Release of prothoracicotropic hormone and potentiation of developmental ability during diapause in the bollworm，*Heliothis zea*. J. Insect physiol.，1977，**23**：683～688

5 Loeb M J. Diapause and development in the tobacco budworm，*Heliothis virescens*：a comparison of haemolymph ecdysteroid titres. J. Insect Physiol.，1982，**28**：667～673

6 Browning T O. Ecdysteroids and diapause in pupae of *Heliothis punctigera*. J. Insect Physiol.，1981，**27**：715～719

7 吴坤君. 棉铃虫的紫云英-麦胚人工饲料. 昆虫学报，1985，**28**：22～29

8 曹梅讯. 20-羟基蜕皮酮放射免疫分析法. 昆虫知识，1986，**23**(2)：87～90

9 朱湘雄，陈志辅. 棉铃虫蛹期血淋巴的蜕皮甾类. 昆虫学报，1986，**29**(4)：345～350

10 Shumakov E M，Yakhimovich L A. Morphological and histological peculiarities of the metamorphosis of the cotton bollworm (*Choridea obsoleta* F.) in connection with the phenomenon of diapause. Dokl. Akad. Sci. SSSR. 1995，**101**(4)：379～382

11 张义成，陆明贤译. 昆虫变态的生理化学. 北京：农业出版社，1988，6～8

12 何 忠，席瑞华等. 棉铃虫滞育的敏感虫期的研究. 动物学集刊，1995，12

THE ROLE OF ECDYSTEROIDS ON DIAPAUSE OF *HELICOVERPA ARMIGERA*

Wang Fanghai Gong He

(*Institute of Zoology*，*Academia Sinica Beijing* 100080)

Abstract The ecdysteroids in the haemolymph of larvae and pupae from diapause and non-diapause destined *Helicoverpa armigera* were measured by radioimmunoassay. It was found that the ecdysteroid titer in the prepupal stage of diapause-destined pupa was higher than that of non-diapause-destined one. There was magnificent difference in titer of ecdysteroids between diapause and non-diapause pupae of *H. armigera*，the ecdysteroid titer in the diapause pupae was much lower. Pupal diapause in *H. armigera* could be immediately terminated with the injection of 20-hydroxyecdysterone.

Key words *Helicoverpa armigera*，ecdysteroids，diapause